



Minyak kelapa *virgin* (VCO)



© BSN 2008

Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang menyalin atau menggandakan sebagian atau seluruh isi dokumen ini dengan cara dan dalam bentuk apapun dan dilarang mendistribusikan dokumen ini baik secara elektronik maupun tercetak tanpa izin tertulis dari BSN

BSN
Gd. Manggala Wanabakti
Blok IV, Lt. 3,4,7,10.
Telp. +6221-5747043
Fax. +6221-5747045
Email: dokinfo@bsn.go.id
www.bsn.go.id

Diterbitkan di Jakarta

Daftar isi

Daftar isi.....	i
Prakata	ii
1 Ruang lingkup.....	1
2 Istilah dan definisi	1
3 Komposisi bahan baku utama	1
4 Persyaratan mutu	1
5 Pengambilan contoh	2
6 Cara Uji.....	2
7 Syarat lulus uji	2
8 Higiene.....	3
9 Pengemasan.....	3
10 Penandaan	3
Lampiran A (normatif) cara pengambilan contoh VCO.....	4
Lampiran B (normatif) cara uji VCO.....	10
Bibliografi.....	28
Tabel 1 - Syarat mutu	1
Tabel A.1 - Volume contoh	5
Tabel A.2 - Jumlah pengambilan contoh dari drum, kaleng dan botol.....	6
Tabel A.3 - Daftar nomor acak.....	7
Tabel A.4 - Jumlah pengambilan contoh terkemas	9
Tabel B.1 - Bobot contoh berdasarkan perkiraan bilangan iod.....	13
Tabel B.2 - Bobot cuplikan berdasarkan perkiraan nilai peroksida.....	16
Tabel B.3 - Kondisi operasi.....	17
Tabel B.4 - Komposisi contoh dan pereaksi	18

Prakata

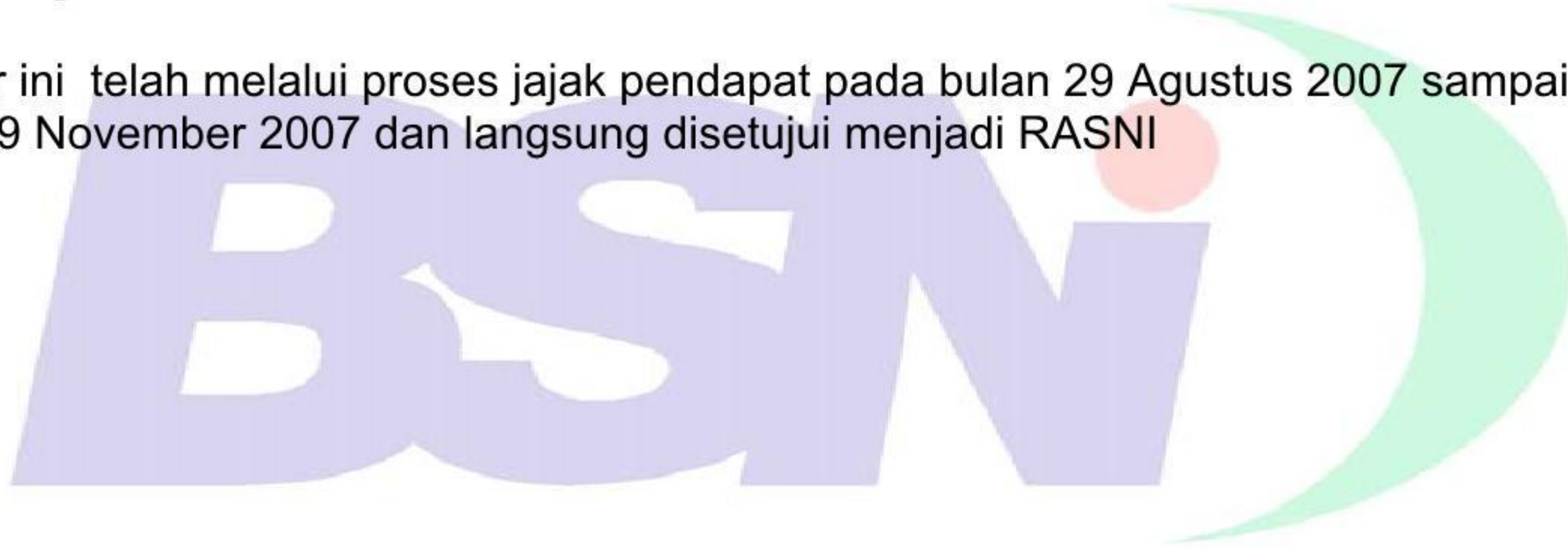
Standar Nasional Indonesia (SNI) *Minyak kelapa virgin (VCO)* disusun oleh Panitia Teknis 67-04 Makanan dan Minuman dan telah dibahas dalam rapat konsensus Panitia Teknis pada tanggal 21 November 2006 di Jakarta. Hadir dalam rapat konsensus anggota Panitia Teknis dan wakil produsen konsumen, lembaga pengujian, Lembaga IPTEK dan instansi terkait lainnya,

Adapun tujuan standar ini adalah untuk menjamin mutu minyak kelapa *virgin* (VCO) yang beredar di Indonesia maupun untuk ekspor dan melindungi keamanan konsumen.

Dalam merumuskan SNI ini telah memperhatikan:

1. Undang-undang RI No. 7 Tahun 1996 tentang Pangan.
2. Undang-undang RI No. 8 Tahun 1999 tentang Perlindungan Konsumen.
3. Peraturan Pemerintah No. 69 Tahun 1999 tentang Label dan Iklan Pangan.
4. Keputusan Direktorat Jenderal Pengawas Obat dan Makanan No. 03725/B/SK/VII/89 tentang Batas Maksimum Cemaran Logam dalam Makanan.
5. Keputusan Direktorat Jenderal Pengawas Obat dan Makanan No. 03726/B/SK/VII/89 tentang Batas Maksimum Cemaran Mikroba dalam Makanan.

Standar ini telah melalui proses jajak pendapat pada bulan 29 Agustus 2007 sampai dengan bulan 29 November 2007 dan langsung disetujui menjadi RASNI



Minyak kelapa *virgin* (VCO)

1 Ruang lingkup

Standar ini menetapkan syarat mutu, pengambilan contoh, cara uji, higiene, minyak kelapa *virgin* (VCO).

2 Istilah dan definisi

2.1

minyak kelapa *virgin* (VCO)

minyak yang diperoleh dari daging buah kelapa (*Cocos nucifera* L.) tua yang segar dan diproses dengan diperas dengan atau tanpa penambahan air, tanpa pemanasan atau pemanasan tidak lebih dari 60 °C dan aman dikonsumsi manusia,

CATATAN VCO adalah singkatan dari *Virgin Coconut Oil*

3 Komposisi bahan baku utama

Bahan baku utama dalam pembuatan VCO yakni daging buah kelapa tua dan segar.

4 Persyaratan mutu

Tabel 1 - Syarat mutu

No.	Jenis uji	Satuan	Persyaratan
1.	Keadaan: 1.1 Bau 1.2 Rasa 1.3 Warna		Khas kelapa segar, tidak tengik Normal, khas minyak kelapa Tidak berwarna hingga kuning pucat
2.	Air dan senyawa yang menguap	%	Maks 0,2
3.	Bilangan iod	g iod/100 g	4,1 – 11,0
4.	Asam lemak bebas (dihitung sebagai asam laurat)	%	Maks 0,2
5.	Bilangan peroksida	mg ek/kg	Maks 2,0
6.	Asam lemak :		
	6.1 Asam kaproat (C6 : 0)	%	ND – 0,7
	6.2 Asam kaprilat (C8 : 0)	%	4,6 – 10,0
	6.3 Asam kaprat (C10 : 0)	%	5,0 – 8,0
	6.4 Asam laurat (C12 : 0)	%	45,1 – 53,2

Tabel 1 (lanjutan)

No.	Jenis uji	Satuan	Persyaratan
	6.5 Asam miristat (C14 : 0)	%	16,8 - 21
	6.6 Asam palmitat (C16 : 0)	%	7,5 – 10,2
	6.7 Asam stearat (C18)	%	2,0 – 4,0
	6.8 Asam oleat (C18 : 1)	%	5,0 – 10,0
	6.9 Asam linoleat (C18 : 2)	%	1,0 – 2,5
	6.10 Asam linolenat (C18:3)	%	ND – 0,2
		koloni/ml	Maks 10
7	Cemaran mikroba		
	7.1 Angka lempeng total	mg/kg	Maks 0,1
8	Cemaran Logam :	mg/kg	Maks 0,4
	8.1 Timbal (Pb)	mg/kg	Maks 5,0
	8.2 Tembaga (Cu)	mg/kg	Maks 0,1
	8.3 Besi (Fe)		
	8.4 Cadmium (Cd)	mg/kg	Maks 0,1
9	Cemaran Arsen (As)		
CATATAN ND = <i>No detection</i> (tidak terdeteksi)			

5 Pengambilan contoh

Cara pengambilan contoh seperti tercantum pada Lampiran A

6 Cara Uji

Cara uji untuk syarat mutu VCO seperti di bawah ini:

- Keadaan
 - Cara uji bau seperti pada Lampiran B.2.1
 - Cara uji rasa seperti pada Lampiran B.2.2
 - Cara uji warna seperti pada lampiran B.2.3
- Cara uji kadar air seperti pada Lampiran B.3
- Cara uji bilangan iod seperti pada Lampiran B.4
- Cara uji asam lemak bebas seperti pada Lampiran B.5
- Cara uji bilangan peroksida seperti pada Lampiran B.6
- Cara uji asam-asam lemak seperti pada Lampiran B.7
- Cara uji cemaran mikroba seperti pada Lampiran B.8
- Cara uji cemaran logam seperti pada Lampiran B.9
- Cara uji cemaran arsen seperti pada Lampiran B.10

7 Syarat lulus uji

VCO dinyatakan lulus uji apabila memenuhi syarat mutu sesuai Pasal 5.

8 Higiene

Cara memproduksi VCO harus dipersiapkan/diproses dan penanganannya mengacu pada peraturan tentang Pedoman Cara Produksi yang baik untuk pangan.

9 Pengemasan

VCO dikemas dalam wadah yang bersih dan tertutup rapat. Bahan kemasan tidak dipengaruhi atau mempengaruhi isi, sehingga produk tetap baik selama penyimpanan dan pengangkutan.

10 Penandaan

VCO harus diberi label sesuai dengan peraturan tentang label dan iklan pangan.



Lampiran A
(normatif)
Cara pengambilan contoh VCO

A.1 Acuan

SNI 19 – 0429 – 1989, *Petunjuk pengambilan contoh cairan dan semi padat.*

A.2 Prinsip

Pengambilan contoh VCO dalam kemasan dilakukan dengan cara melihat banyaknya unit contoh dan contoh diambil secara acak.

A.3 Cara pengambilan contoh

Alat yang dipergunakan untuk pengambilan contoh harus bersih dan kering. Pengambilan dilaksanakan di tempat yang terlindung dari hal-hal yang dapat mempengaruhi contoh (debu, hujan, suhu, dan lain-lain).

A.3.1 Tanding berbentuk curah

Bila tanding berbentuk curah, contoh sebaiknya diambil ketika bahan dialirkan melalui pipa penyalur ke dalam tangki.

Untuk cairan yang telah tertampung dalam bak atau tangki pengambilan contoh dilakukan dengan menggunakan alat yang sesuai.

A.3.1.1 Pengambilan contoh dari pipa penyalur

Kecepatan aliran cairan dalam pipa harus diatur sedemikian rupa sehingga dapat menyebabkan gerakan yang mengaduk cairan. Contoh diambil dengan menggunakan pipa berkeran.

Contoh diambil pada selang waktu tertentu yang ditentukan oleh percobaan, tergantung kepada sifat bahan. Penampungan contoh sedemikian rupa sehingga masing-masing pengambilan volumenya sama, dan pada akhirnya diperoleh jumlah yang dikehendaki. Batas ukuran tanding yang dapat diwakili oleh satu contoh maksimum 500 ton. Bila besar tanding lebih dari 500 ton, maka kelebihanannya dianggap tanding lain.

A.3.1.2 Pengambilan contoh dari tangki

Bila tangki berbentuk silinder vertikal, berada di darat, atau tangki kapal, pengambilan contoh dilakukan sebagai berikut:

Contoh diambil pada jarak tiap 30 cm dari dasar sampai ke permukaan cairan. Volume tiap pengambilan harus sama, dan seluruhnya disatukan jadi satu contoh.

Bila isi tangki diketahui homogen, contoh diambil dari lima tempat ketinggian, satu kali pada jarak sepersepuluh tinggi cairan dari dasar, tiga kali dari pertengahan tinggi cairan, dan satu kali dari 9/10 tinggi cairan dari dasar, kelima hasil pengambilan yang sama volumenya masing-masing dicampur menjadi satu contoh.

Bila tangki merupakan tangki mobil, atau tangki silinder horizontal, pengambilan contoh dilakukan sebagai berikut :

Beberapa bagian contoh diambil dengan perbandingan volume tertentu, seperti dilukiskan pada Tabel A.1. Banyaknya pengambilan bagian contoh dan beberapa perbandingan volumenya ditentukan oleh beberapa persen tinggi tangki terisi oleh cairan. Bagian-bagian itu dicampur menjadi satu.

Tabel A.1 - Volume contoh

Tinggi cairan terhadap tinggi tangki (%)	Tempat contoh diambil (tinggi dari dasar, % terhadap tinggi tangki)			Volume tiap pengambilan (%) dari seluruh volume contoh		
	Lapisan cairan					
	Atas	Tengah	Bawah	Atas	Tengah	Bawah
10	-	-	5	-	-	100
20	-	-	10	-	-	100
30	-	20	10	-	60	40
40	-	25	10	-	70	30
50	-	30	10	-	80	20
60	55	36	10	10	80	10
70	65	40	10	10	80	10
80	65	45	10	10	80	10
90	85	50	10	10	80	10
100	90	50	10	10	80	10

A.3.2 Tanding berbentuk terkemas

Cairan mungkin dikemas dalam tangki kecil atau drum, atau dalam wadah-wadah kecil seperti botol, kaleng, dan lain-lain yang kemudian beberapa botol/kaleng dikemas lagi dalam dus/peti, dan lain-lain.

A.3.2.1 Cairan dikemas dalam drum atau tangki kecil berkapasitas 20 l – 200 l

Sesuai dengan sifat dari bahan bila perlu drum terlebih dahulu digoyang-goyangkan atau isi drum diaduk hingga serba sama.

Contoh diambil dengan menggunakan tabung pengambil contoh. Tergantung kepada jumlah drum, contoh yang akan diambil sesuai Tabel A.2.

Pemilihan drum-drum yang akan diambil contohnya, ditentukan dengan cara acak menggunakan Daftar Nomor Acak pada Tabel A.3.

Misal tanding terdiri dari 50 drum. Semua drum diberi nomor dari 01, 02, 03 50. Berdasarkan petunjuk di atas, contoh harus diambil dari 4 drum, dan dengan menggunakan Daftar Nomor Acak ternyata drum no. 04, 46, 29, 17. Dari tiap drum diambil cairan yang volumenya sama, lalu dicampur menjadi satu contoh.

Batas ukuran tanding yang dapat diwakili oleh satu contoh maksimum 500 ton. Bila besar tanding lebih dari 500 ton, maka kelebihanannya dianggap tanding lain

Tabel A.2 - Jumlah pengambilan contoh dari drum, kaleng dan botol

Jumlah drum/kaleng/botol dalam tanding	Jumlah drum/kaleng/botol yang diambil contohnya
Kurang dari 4 4 – 100 Lebih dari 100	Semua drum/ kaleng/botol 20% dari jumlah drum/ kaleng/botol , minimum 4. 10% dari jumlah drum/ kaleng/botol , minimum 20.



Tabel A.3 - Daftar nomor acak

Line	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
1	78994	36244	32673	25475	84953	61792	50243	63423
2	04909	58485	70686	93930	34880	73059	06825	80257
3	46582	73576	33004	61795	86477	46736	60460	70345
4	29242	89792	88634	60285	07190	07795	27011	85941
5	68104	81339	97090	20601	78940	20228	22083	96070
6	17156	02182	82504	19880	93747	80910	78260	25136
7	50711	94789	07171	02103	99057	98775	37997	18325
8	35449	52409	75095	77720	39729	03025	09313	43545
9	75622	82729	76916	72657	58992	32756	01154	84890
10	01020	55151	36132	51971	32155	60735	64867	35424
11	08337	89989	24260	08618	66798	25889	52860	57375
12	76829	47229	19706	30094	69430	92399	98749	22081
13	89708	30641	21267	56501	95182	72442	21445	17276
14	89836	55817	56747	75195	06818	83043	47403	58266
15	25903	61370	66081	54076	67442	52964	23823	02718
16	71345	03422	01015	68025	19703	77313	04555	83425
17	61454	92263	14547	08473	34124	107740	40839	05620
18	80376	08909	30470	40200	46448	617742	11643	92121
19	45144	54373	05505	90074	24783	86299	20900	15144
20	12191	88527	58852	51175	11534	87218	04876	85584
21	62936	59120	73957	35969	21598	47287	39394	08778
22	31588	96798	43668	12611	01714	77266	55079	24690
23	20787	96048	84726	17512	39450	43618	30629	24356
24	45063	00745	84635	43079	52724	14262	05750	89373
25	31606	64782	34027	56734	09365	20008	93559	78384
26	10452	33074	76718	99556	16026	00013	78411	95107
27	37016	64633	67301	50949	91298	74969	73631	57397
28	66725	97865	25409	37498	00816	99261	14471	10232
29	07380	74438	82120	17890	40963	55757	13492	68294
30	71621	57688	58256	47702	74724	98419	08025	68519
31	03466	13263	23917	20417	11315	52805	33072	07723
32	12692	32931	97387	34822	53775	91674	76549	37635
33	52192	30941	44998	17833	94563	23062	95725	38463
34	56691	72529	66063	73570	86860	68125	40436	31303
35	74952	43042	58869	15677	78598	43520	97521	83248
36	18752	43693	32867	53017	22661	39610	03796	02622
37	61961	04944	43111	28325	82319	65589	96048	98198
38	49197	43948	78947	60207	70667	39843	60607	15328
39	19436	87291	71884	74859	76501	93456	95714	92518
40	39143	64803	14605	13543	09621	68301	69817	52140
41	82244	67549	76491	09761	74494	91307	64222	66592
42	55847	56155	42878	23708	97999	40131	52360	90390
43	94095	95970	97826	25991	37584	56966	68623	83454
44	11751	69469	25521	44097	07511	88996	30122	67542
45	69902	08995	27821	11758	46989	61920	32121	28165
46	21850	25352	25556	92161	23592	43294	10479	37879
47	75850	46992	25165	55906	62339	88958	91717	15756
48	29648	22086	42581	85677	20251	39641	65786	80689
49	82740	28448	42734	25518	82827	35325	90288	32911
50	36842	42092	52075	83926	42875	71500	69216	01350

A.3.2.2 Cairan dikemas dalam wadah-wadah kecil, seperti botol plastik dan botol gelas

Tergantung kepada jumlah wadah dalam tanding dan ukuran masing-masing wadah, jumlah contoh yang diambil adalah seperti dalam Tabel A.4. Misal terdapat 400 kotak, masing-masing berisi 48 kaleng berukuran no. 300. Jumlah kaleng seluruhnya 19.200 buah. Berdasarkan Tabel A.3 jumlah contoh yang harus diambil 13 buah yang diambil secara acak menggunakan Daftar Nomor Acak. Seluruh 13 wadah diserahkan untuk pemeriksaan



Tabel A.4 - Jumlah pengambilan contoh terkemas

Kelompok		Jumlah wadah dalam tanding								
I	Ukuran wadah lebih kecil dari 250 ml	3.600 atau kurang	3.601-14.400	14.401-48.000	48.001-96.000	96.001-156.000	156.001-228.000	228.001-300.000	300.001-420.000	Lebih dari 420.000
II	Ukuran wadah sama dengan, atau lebih besar dari 250 ml tapi tidak lebih besar dari 500 ml	2.400 atau kurang	2.401-12.000	12.001-24.000	24.001-48.000	48.001-72.000	72.001-108.000	108.001-168.000	168.001-240.000	Lebih dari 240.000
III	Ukuran wadah lebih besar dari 500 ml tapi tidak lebih dari 1000 ml	1.200 atau kurang	1.201-7200	7.201-15.000	15.001-24.000	24.001-36.000	36.001-60.000	60.001-84.000	84.001-120.000	Lebih dari 120.000
IV	Ukuran wadah lebih besar dari 1000 ml tapi tidak lebih dari 20 liter	200 atau kurang	201-800	801-1.600	1.601-2.400	2.401-3.600	3.601-8000	8.001-16.000	16.001-28.000	Lebih dari 28.000
V	Ukuran wadah lebih dari 20 liter	25 atau kurang	26-80	81-200	201-400	401-800	801-1.200	1.201-2.000	2.001-3.200	Lebih dari 3.200
Pengambilan wadah untuk satu contoh										
	Jumlah contoh yang diambil	3	6	13	21	29	38	48	60	72
	Jumlah maksimum contoh cacat yang diterima	0	1	2	3	4	5	6	7	8

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penayangan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

Lampiran B
(normatif)
Cara uji VCO

B.1 Persiapan contoh

B.1.1 Persiapan contoh untuk uji mikrobiologi

Buka kemasan minyak kelapa virgin secara aseptis kemudian dimasukkan ke dalam wadah untuk uji mikrobiologi.

B.1.2 Persiapan contoh untuk uji organoleptik

Buka kemasan minyak kelapa virgin kemudian pindahkan contoh ke wadah uji organoleptik.

B.1.3 Persiapan contoh untuk analisis kimia

Kocok contoh minyak kelapa virgin hingga homogen lalu pindahkan contoh ke wadah uji kimia.

B.2 Keadaan

B.2.1 Bau

B.2.1.1 Prinsip

Melakukan analisis terhadap contoh uji secara organoleptik dengan menggunakan indera penciuman (hidung).

B.2.1.2 Cara kerja

- a) Contoh dikocok lalu tutup wadah dibuka.
- b) Cium contoh uji pada jarak kira-kira 5 cm dari hidung dan kemudian kebaskan ke arah hidung untuk mengetahui baunya.
- c) Analisis dilakukan oleh minimal 3 orang panelis atau 1 orang tenaga ahli.

B.2.1.3 Cara menyatakan hasil

- a) jika tercium bau khas minyak kelapa segar dan tidak tengik maka hasil dinyatakan "normal";
- b) jika tercium bau asing maka hasil dinyatakan "tidak normal".

B.2.2 Rasa

B.2.2.1 Prinsip

Melakukan analisis terhadap contoh uji secara organoleptik dengan menggunakan indera perasa (lidah).

B.2.2.2 Cara kerja

- a) tuangkan contoh dalam sendok teh bersih dan rasakan dengan lidah,

- b) lakukan pengerjaan minimal oleh 3 orang panelis atau 1 orang tenaga ahli.

B.2.2.3 Cara menyatakan hasil

- a) hasil dinyatakan "normal"; jika rasa khas minyak kelapa,
- b) jika terasa rasa asing maka hasil dinyatakan "tidak normal".

B.2.3 Warna

B.2.3.1 Prinsip

Melakukan analisis terhadap contoh uji secara organoleptik dengan menggunakan indera penglihat (mata).

B.2.3.2 Cara kerja

- a) pindahkan contoh ke dalam tabung reaksi lalu amati dengan mata,
- b) lakukan pengerjaan minimal oleh 3 orang panelis atau 1 orang tenaga ahli.

B.2.3.3 Cara menyatakan hasil

- a) jika tidak terlihat warna lain atau kuning pucat maka hasil dinyatakan "normal";
- b) jika terlihat warna lain maka hasil dinyatakan "tidak normal".

B.3 Kadar air

B.3.1 Metode oven

B.3.1.1 Acuan

ISO 662 – 1089 (E), Second edition 1998 – 09 – 15, Animal and Vegetable fats and oil – Determination of moisture and volatile matter content.

B.3.1.2 Prinsip

Kehilangan pada bobot pemanasan 105 °C dianggap sebagai kadar air yang terdapat dalam contoh.

B.3.1.3 Peralatan

- a) Neraca analitik terkalibrasi dengan ketelitian 0,1 mg;
- b) Oven pengering dengan pemanas listrik 103 °C ± 2 °C;
- c) Botol timbang diameter 50 mm, tinggi 30 mm, dasar rata;
- d) Desikator.

B.3.1.4 Cara kerja

- a) Panaskan botol timbang berisi pasir laut kering (kuarsa/kertas saring berlipat) dan pengaduk pada oven dengan suhu 105 °C selama satu jam.
- b) Dinginkan dalam desikator selama ½ jam.
- c) Timbang dan catat bobotnya.
- d) Timbang minyak sebanyak 5 gram pada botol timbang yang sudah didapat bobot konstan.
- e) Panaskan dalam oven pada suhu 105 °C selama satu jam.

- f) Dinginkan dalam desikator selama ½ jam.
- g) Timbang botol timbang yang berisi cuplikan tersebut.
- h) Ulangi pemanasan dan penimbangan sampai diperoleh bobot tetap.

B.3.1.5 Perhitungan

Kadar air dinyatakan sebagai % (b/b), dihitung sampai dua desimal dengan menggunakan rumus:

$$\text{Kadar air} = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100\%$$

dengan :

m_1 adalah bobot cuplikan

m_2 adalah bobot cuplikan setelah pengeringan

B.4 Bilangan iod

B.4.1 Acuan

American Oil Chemists Society (AOCS) Official Method Cd 1 – 25, 1993.

B.4.2 Prinsip

Penambahan larutan iodium monoklorida dalam campuran asam asetat dan sikloheksan ke dalam contoh. Setelah melewati waktu tertentu dilakukan penetapan halogen yang dibebaskan dengan penambahan kalium iodida (KI). Banyaknya iod yang dibebaskan dititrasikan dengan larutan standar natrium tiosulfat dan indikator kanji.

B.4.3 Perekasi

- a) Cyclohexane
- b) Asam asetat
- c) Larutan kalium iodida (KI) 20 %, larutkan 20 g kalium iodida dalam 100 ml air suling.
- d) Larutan natrium tiosulfat 0,1 N. Pembuatan 1 N standar natrium tiosulfat.
Timbang 248 natrium tiosulfat. Larutkan dengan air suling bebas CO₂ dan masukkan ke dalam labu ukur 1 liter kemudian tera dan himpitkan. Encerkan 100 ml larutan natrium tiosulfat 1 N ke dalam labu ukur 1 liter dan tera labu ukur sampai tanda garis dengan air suling bebas CO₂.
- e) Indikator larutan kanji 0,5 %. 0,5 g serbuk kanji dididihkan dengan 100 ml air suling.
- f) Larutan wijs.
Pembuatan:
Timbang 13 g iod dilarutkan ke dalam 1 liter asam asetat pekat lalu dialiri gas khlor (tidak boleh berlebihan), sehingga sejumlah khlor yang terikat setara dengan iod yaitu diperlukan 3,6 g khlor.
Untuk mengetahui apakah jumlah tersebut sudah cukup, erlenmeyer berisi larutan asam asetat ditimbang sebelum dan sesudah dialiri gas khlor atau dengan memperhatikan perubahan warna dari coklat tua menjadi coklat kekuning-kuningan. Larutan wijs dimasukkan ke dalam botol berwarna dan disimpan di tempat gelap pada suhu kurang dari 30 °C.

CATATAN Larutan wijs dapat pula diperoleh dalam keadaan siap pakai.

B.4.4 Peralatan

- Neraca analitik, ketelitian minimal $\pm 0,1$ mg, terkalibrasi;
- Erlenmeyer 500 ml bertutup asah;
- Pipet gondok 25 ml, terkalibrasi;
- Buret 50 ml, ketelitian 0,1 ml, terkalibrasi.

B.4.5 Cara kerja

- Timbang dengan teliti sejumlah contoh berdasarkan bilangan iod dari contoh tersebut ke dalam erlenmeyer 500 ml, bertutup asah, lihat Tabel B.1 ;
- Tambahkan 15 ml pelarut (sikloheksan : asam asetat, 1 : 1) dengan menggunakan gelas ukur untuk melarutkan lemak;
- Tambahkan dengan tepat 25 ml larutan wijs dengan menggunakan pipet gondok (jangan dipipet dengan mulut), kemudian tutuplah erlenmeyer tersebut;
- Simpan selama 1 jam – 2 jam dalam tempat/ruang gelap untuk lemak yang mempunyai nilai bilangan iod di bawah 50, simpan di tempat gelap selama 1 jam. Untuk lemak yang mempunyai bilangan iod di atas 50, simpan di tempat gelap selama 2 jam;
- Tambahkan 10 ml larutan KI 20% dan 100 ml air suling. Tutup erlenmeyer dengan segera, kocok dan titar dengan larutan natrium tiosulfat 0,1 N dan larutan kanji sebagai indikator;
- Lakukan penetapan duplo;
- Lakukan penetapan blanko;
- Hitung bilangan iod dalam contoh.

Tabel B.1 - Bobot contoh berdasarkan perkiraan bilangan iod

Nilai bilangan iod	Contoh (gram)
< 5	3,00
5 – 20	1,00
21 – 50	0,40
51 – 100	0,20
101 – 150	0,13
151 – 200	0,10

B.4.6 Perhitungan

Bilangan iod dinyatakan sebagai gram iod yang diserap per 100 gram dihitung sampai dua desimal dengan menggunakan rumus:

$$\text{Bilangan iod} = \frac{(V_0 - V_1) \times N \times 12,69}{m}$$

dengan :

N adalah normalitas larutan standar natrium tiosulfat 0,1 N

V_0 adalah volume larutan tio 0,1 N yang diperlukan pada penitaran blanko, (ml).

V_1 adalah volume larutan tio 0,1 N yang diperlukan pada penitaran contoh, (ml).

m adalah bobot contoh, (g).

B.5 Asam lemak bebas**B.5.1 Acuan**

American Oil Chemists Society (AOCS) Official Method, Ca 5a – 71, 1993.

B.5.2 Prinsip

Pelarutan contoh lemak/minyak dalam pelarut organik tertentu (alkohol 96 % netral) dilanjutkan dengan penitaran basa (NaOH atau KOH).

B.5.3 Perekasi

- Larutan alkohol 95 % netral
Masukkan alkohol 95 % sebanyak yang diperlukan ke dalam Erlenmeyer, tetesi dengan beberapa tetes indikator fenolftalein kemudian dititrasasi dengan larutan standar NaOH 0,1 N sampai terbentuk warna merah muda.
- Indikator fenolftalein (PP) 0,5 %
Larutkan 0,5 g fenolftalein dalam 100 ml etanol 95%
- Larutkan standar NaOH 0,1
 - Pembuatan larutan NaOH 50 % (larutan sorenson)
Larutkan 100 g NaOH dalam air suling bebas CO₂ sebanyak 100 ml.
 - Pembuatan larutan standar NaOH 0,1 N
Larutkan 5,26 ml NaOH 50 % (19 N) ke dalam labu ukur 1000 ml dan ditera sampai tanda garis dengan air suling bebas CO₂. Tetapkan normalitas larutan tersebut.

B.5.4 Peralatan

- Neraca analitik, ketelitian minimal 0,1 ml, terkalibrasi.
- Erlenmeyer 250 ml, terkalibrasi.
- Buret 10 ml atau 50 ml, terkalibrasi.

B.5.5 Cara kerja

- Timbang dengan seksama 30 gr contoh ke dalam Erlenmeyer 250 ml.
- Tambahkan 50 ml etanol 95 % netral.
- Tambahkan 3 tetes – 5 tetes indikator PP dan titar dengan larutan standar NaOH 0,1 N hingga warna merah muda tetap (tidak berubah selama 15 detik).
- Lakukan penetapan duplo.
- Hitungan bilangan asam/kadar asam lemak bebas/derajat asam dalam contoh.

B.5.6 Perhitungan

Asam lemak bebas (dihitung sebagai asam laurat), dinyatakan sebagai persen asam lemak, dihitung sampai dua desimal dengan menggunakan rumus :

$$\text{Asam lemak bebas (sebagai asam laurat)} = \frac{V \times N \times 200}{m \times 10}$$

dengan :

V adalah volume NaOH yang diperlukan dalam penitaran, (ml)

N adalah normalitas NaOH

m adalah bobot contoh, (g)

200 adalah bobot molekul asam laurat

B.6 Bilangan peroksida

B.6.1 Acuan

SNI 01 – 3555 – 1994, *Cara uji minyak dan lemak*.

B.6.2 Prinsip

Larutan contoh dalam asam asetat glasial, dan kloroform direaksikan dengan larutan KI. Iodium yang dibebaskan dititrasi dengan larutan standar natrium tiosulfat.

B.6.3 Pereaksi

1. Kloroform pro analisis.
2. Asam asetat glasial, pro analisis.
3. Kalium iodida, p.a kristal.
4. Etanol 95 %.
 - a) Pembuatan larutan standar natrium tio sulfat 1 N
Timbang 246 gram natrium tiosulfat $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, larutkan ke dalam labu ukur satu liter dengan air suling bebas CO_2 kemudian tera dan himpitkan.
 - b) Pembuatan larutan standar natrium tiosulfat 1 N
Encerkan 100 ml larutan standar natrium tiosulfat ini ke dalam labu ukur satu liter lalu isi dan tera labu ukur sampai tanda garis dengan air suling bebas CO_2 .
 - c) Larutan natrium tiosulfat 0,02 N
Larutkan 20 ml larutan natrium tiosulfat 0,1 N (dengan pipet) dalam labu ukur 100 ml lalu isi dan tera labu ukur sampai tanda garis dengan air suling bebas CO_2 .
5. Air suling bebas CO_2 .
Didihkan air suling selama 20 menit, kemudian dinginkan dalam sebuah wadah yang dilengkapi dengan alat proteksi CO_2 yang berupa tabung penyerap yang mengandung campuran NaOH dan CaO.
6. Indikator larutan kanji 0,5 %.
Didihkan 0,5 gram serbuk kanji dengan 100 ml air suling.

CATATAN Tambahkan sedikit HgO kristal untuk pengawetan.

B.6.4 Peralatan

- a) Neraca analitik, ketelitian 0,1 mg, terkalibrasi;
- b) Erlenmeyer, bertutup asah 250 ml – 300 ml;
- c) Pipet gondok 20 ml, terkalibrasi;
- d) Labu ukur 100 ml, terkalibrasi;
- e) Buret 10 ml dan 50 ml, terkalibrasi;
- f) Gelas ukur 50 ml dan 100 ml.

B.6.5 Cara kerja

- a) Timbang ke dalam erlenmeyer 300 ml, sebanyak 0,3 gram – 5 gram contoh.
- b) Tambahkan 10 ml kloroform dan larutkan contoh dengan cara menggoyangkan erlenmeyer dengan kuat.
- c) Tambahkan 15 ml asam asetat glasial dan 1 ml larutan kalium iodida jenuh.
- d) Tutuplah segera erlenmeyer tersebut dan kocok kira-kira 5 menit di tempat gelap pada suhu 15°C – 25°C .
- e) Tambahkan 75 ml air suling dan kocok dengan kuat.

- f) Titar dengan larutan standar natrium tiosulfat 0,02 N dengan larutan kanji sebagai indikator.
- g) Lakukan penetapan blanko.
- h) Lakukan penetapan duplo.
- i) Hitung bilangan peroksida dalam contoh.

Tabel B.2 - Bobot cuplikan berdasarkan perkiraan nilai peroksida

Perkiraan nilai peroksida (miligram ekuivalen oksigen/kg)	Bobot cuplikan (g)
0 – 12	2,0 – 5,0
12 – 20	1,2 – 2,0
20 – 30	0,8 – 1,2
30 – 50	0,5 – 0,8
50 – 90	0,3 – 0,5

B.6.6 Perhitungan

Bilangan peroksida dapat dinyatakan dalam miligram ekuivalen dari oksigen aktif per kg. Dihitung sampai dua desimal contoh dengan menggunakan rumus :

$$\text{Bilangan peroksida (mg/kg)} = \frac{(V_1 - V_0) \times N}{m} \times 1000 \text{ atau}$$

dengan :

V_0 adalah volume dari larutan natrium tiosulfat untuk penitaran blanko, (ml);

V_1 adalah volume dari larutan natrium tiosulfat untuk penitaran contoh, (ml);

N adalah normalitas larutan standar natrium tiosulfat yang digunakan;

m adalah berat contoh, (g).

B.7 Asam-asam lemak

B.7.1 Acuan

- AOCS *The American Oil Chemists Society*, Ce 2 – 66, 1998;
- ISO 5509, second edition 2000-04-01, *Animal and Vegetable Fats and Oil Preparation of Methyl Esters of Fatty Acids*.

B.7.2 Prinsip

Lemak dan asam-asam lemak diekstrak dari contoh dengan cara hidrolisis menggunakan basa. Hasil ekstraksi kemudian dimetilasi menjadi asam lemak metil ester dengan menggunakan BF₃ dalam methanol. Jumlah asam metil ester dapat diukur dengan menggunakan Gas Kromatografi (GC).

B.7.3 Peralatan

- a. Gas Kromatografi (GC), dilengkapi dengan *Flame Ionization Detector*, injektor dan suhu oven terprogram.

Kondisi operasi :

Temperatur injektor : 250 °C
Temperatur Oven :

Tabel B.3 - Kondisi operasi

Suhu (°C)	Waktu (menit)	Tingkat (°C /mnt)
100	0.00	5.0
150	3.00	5.0
250	3.00	end

Temperatur FID : 250 °C
Gas Pembawa : Helium
Kecepatan alir : 0.75 ml/menit
Gas Pembakar : Udara tekan dan hidrogen

- b. Kolom : Kapiler panjang 30 m
Diameter dalam 0,25 mm
Film 0,25 mm
- c. Neraca analitik terkalibrasi
- d. Kondensor
- e. Penangas air
- f. Labu didih 250 ml
- g. Labu kocok

B.7.4 Pereaksi

- a) Pereaksi BF-3 Methanol
- b) Natrium hidroksida (NaOH) – 0,5 N dalam methanol
Pembuatan : Timbang 20 g NaOH, larutkan dalam 1 liter methanol
- c) Natrium klorida (NaCl), jenuh dalam air :
Pembuatan : Larutkan NaCl ke dalam 100 ml air aduk hingga larut, lakukan penambahan NaCl berulang-ulang hingga larutan tidak dapat melarutkan lagi NaCl
- d) Petroleum eter p.a
- e) Natrium sulfat (Na₂SO₄) – Anhidrat
- f) Panaskan pada suhu 100 °C selama 1 jam
- g) Standar mixed Asam lemak
- h) Larutan Indikator MM-1 % dalam alkohol 60 %

B.7.5 Cara kerja

B.7.5.1 Penimbangan contoh

Penimbangan contoh jumlahnya tidak ditentukan, tetapi perlu diketahui untuk menentukan ukuran labu dan jumlah yang akan digunakan seperti Tabel B.4 berikut ini :

Tabel B.4 - Komposisi contoh dan pereaksi

Contoh (mg)	Kapasitas labu (ml)	NaOH 0.5 N (ml)	BF – 3 Methanol (ml)
100 – 250	50	4	5
250 – 500	50	6	7
500 – 750	125	8	9
750 – 1000	125	10	12

B.7.5.2 Persiapan contoh**B.7.5.2.1 Persiapan sampel**

- Timbang contoh, masukkan ke dalam labu didih 250 ml
- Tambahkan pereaksi NaOH 0,5 N – Methanol dan BF-3 sesuai tabel di atas, kemudian didihkan di atas penangas air selama 2 menit dengan kondensor atau pendinginan tegak
- Tambahkan 5 ml Heptan melalui kondensor, kemudian didihkan kembali selama 1 menit, lepaskan labu didih dari kondensor, kemudian pada saat masih hangat tambahkan 30 ml larutan NaCl jenuh, labu didih ditutup dan larutan digoyangkan dengan hati-hati selama 1 menit. Penambahan larutan NaCl jenuh harus cukup untuk mendapatkan proses pemisahan yang sempurna
- Masukkan larutan ke dalam labu kocok, tambahkan 50 ml petroleum eter kemudian kocok selama 3 menit

B.7.5.2.2 Persiapan injeksi sampel

- Pisahkan lapisan bagian atas (larutan petroleum yang mengandung asam lemak), dan cuci larutan petroleum eter dengan air suling hingga bebas basa
- Masukkan larutan petroleum eter yang mengandung metil ester ke dalam labu didih berdasar bulat, kemudian uapkan larutan dengan vakum evaporator hingga kering
- Larutkan residu hingga 1 ml dengan petroleum eter
- Larutan siap untuk diinjeksikan ke dalam alat GC.

B.8 Cemarkan Mikroba**B.8.1 Acuan**

- SNI 01 – 2891- 1998, *Cara uji cemarkan mikroba*;
- *Association of Official Analytical Chemistry. 2000. AOAC, Official Method 966. 23, Microbiological Methods, 17th Edition, Chapter 17.2.01*;
- *Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual. 1998. Aerobic Plate Count. 8th edition. Chapter 3.*

B.8.2 Persiapan dan homogenisasi contoh untuk uji Angka Lempeng Total**B.8.2.1 Prinsip**

Pembebasan sel-sel bakteri yang mungkin terlindung oleh partikel makanan dan untuk mengaktifkan kembali sel-sel bakteri yang mungkin viabilitasnya berkurang karena kondisi yang kurang menguntungkan dalam makanan. Persiapan dan homogenisasi contoh bertujuan agar bakteri terdistribusi dengan baik di dalam contoh makanan yang ditetapkan.

B.8.2.2 Larutan pengencer*Buffered Pepton Water (BPW)*

Pepton	10 g
Natrium klorida	5 g
<i>Disodium hydrogen phosphate</i>	3,5 g
<i>Kalium hydrogen phosphate</i>	1,5 g
Air suling	1000 ml

Larutkan bahan-bahan di atas menjadi 1000 ml dengan air suling dan atur pH menjadi 7,0. Pipet 225 ml larutan tersebut ke dalam botol 500 ml dan 9 ml ke dalam tabung reaksi. Sterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit.

B.8.2.3 Peralatan

- neraca analitik kapasitas 2000 g terkalibrasi dengan ketelitian 0,1 g;
- gelas piala steril;
- labu Erlenmeyer steril;
- botol pengencer steril;
- pipet volumetrik steril;
- tabung reaksi;
- labu ukur 50 ml, 100 ml, 500 ml, dan 1000 ml terkalibrasi;
- penangas listrik.

B.8.2.4 Homogenisasi contoh

- Pipet 25 g contoh dan masukkan ke dalam erlenmeyer yang telah berisi 225 ml larutan pengencer sehingga diperoleh pengenceran 1 : 10.
- Kocok campuran beberapa kali sehingga homogen.

B.8.3 Angka lempeng total (*metode plate count*)**B.8.3.1 Prinsip**

Pertumbuhan bakteri misofil aerob setelah contoh diinkubasikan dalam pembenihan yang sesuai selama 48 jam pada suhu $(35 \pm 1) ^\circ\text{C}$.

B.8.3.2 Peralatan

- cawan petri gelas/plastik diameter 50 mm – 60 mm steril;
- pipet ukur 1 ml, 5 ml, dan 10 ml;
- penangas air $(45 \pm 1) ^\circ\text{C}$;
- inkubator terkalibrasi;
- alat penghitung koloni (*colony counter*);
- autoklaf terkalibrasi;
- oven / alat sterilisasi kering terkalibrasi.

B.8.3.3 Pembenihan*Plate count agar (PCA)*

<i>"Pancreatic digest of caseine"</i>	5 g
<i>"Yeast extrac"</i>	2,5 g
Glukosa	1 g
Agar	15 g

Air suling 1000 ml
 Larutkan bahan-bahan di atas menjadi 1000 ml dengan air suling dan atur pH menjadi 7,0. Masukkan sebanyak 300 ml – 500 ml larutan tersebut ke dalam botol 500 ml. Sterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit.

B.8.3.4 Cara kerja

- buat pengenceran 1 : 100 dengan mencampurkan 1 ml dari contoh dengan tingkat pengenceran 1 : 10 ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 9 ml larutan pengencer *buffered peptone water* yang telah disterilisasi;
- pipet masing-masing 1 ml dari pengenceran 10^1 – 10^2 ke dalam cawan petri steril secara duplo;
- tuangkan 12 ml – 15 ml media PCA yang masih cair dengan suhu (45 ± 1) °C ke dalam masing-masing cawan petri dalam waktu 15 menit dari pengenceran pertama;
- goyangkan cawan petri dengan hati-hati (putar dan goyang ke depan, ke belakang, ke kanan dan ke kiri) sehingga contoh dan pembenihan tercampur merata;
- kerjakan pemeriksaan blanko dengan mencampur air pengencer untuk setiap contoh yang diperiksa;
- biarkan sampai campuran dalam cawan petri memadat;
- masukkan semua cawan petri dengan posisi terbalik ke dalam lemari pengering pada suhu (35 ± 1) °C selama 48 jam;
- catat pertumbuhan koloni pada setiap cawan petri yang mengandung 25 koloni – 250 koloni setelah 48 jam.

B.8.3.5 Perhitungan

Angka lempeng total (koloni/ml) = $n \times F$

dengan :

n adalah rata-rata koloni dari dua cawan petri dari satu pengenceran, dinyatakan dengan koloni/ml

F adalah faktor pengenceran dari rata-rata koloni yang dipakai

B.8.3.6 Pernyataan hasil

B.8.3.6.1 Cara menghitung

- pilih cawan petri dari satu pengenceran yang menunjukkan jumlah koloni antara 25 koloni – 250 koloni setiap cawan petri. Hitung semua koloni dalam cawan petri menggunakan alat penghitung koloni. Hitung rata-rata jumlah koloni dan kalikan dengan faktor pengenceran. Nyatakan hasilnya sebagai jumlah bakteri per gram;
- jika salah satu dari dua cawan petri terdapat jumlah koloni lebih kecil dari 25 koloni atau lebih besar dari 250 koloni, hitung jumlah koloni yang terletak antara 25 koloni – 250 koloni dan kalikan dengan faktor pengenceran. Nyatakan hasilnya sebagai jumlah bakteri per gram;

contoh :

10^{-2}	10^{-3}
120	25
105	20
$120 + 105 + 25$	
$ALT = \frac{\quad}{[(1 \times 2) + (0,1 \times 1) \times 10^{-2}]} = 124,9375$	

- c) jika hasil dari dua pengenceran jumlahnya berturut-turut terletak antara 25 koloni – 250 koloni, hitung jumlah koloni dari masing-masing pengenceran koloni per g dengan rumus :

$$ALT = \frac{\sum C}{[(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2) \times d]}$$

dengan :

C adalah jumlah koloni dari tiap-tiap petri;

n_1 adalah jumlah petri dari pengenceran pertama yang dihitung;

n_2 adalah jumlah petri dari pengenceran kedua;

d adalah pengenceran pertama yang dihitung;

Contoh :

10^{-2}	10^{-3}
131	30

a) 25

$$ALT = \frac{131 + 143 + 30 + 25}{[(1 \times 2) + (0,1 \times 2) \times 10^{-2}]} = 164,3357$$

- d) jika jumlah koloni dari masing-masing petri lebih dari 25 koloni nyatakan sebagai jumlah bakteri perkiraan;

- jika jumlah koloni per cm^2 kurang dari 100 koloni maka nyatakan hasilnya sebagai jumlah perkiraan : jumlah bakteri dikalikan faktor pengenceran.

Contoh :

10^{-2}	10^{-3}	Jumlah bakteri perkiraan
~	640	$1000 \times 640 = 640.000 (6.4 \times 10^5)$

- jika jumlah koloni per cm^2 lebih dari 100 koloni maka nyatakan hasilnya :
area x faktor pengenceran x 100 contoh rata-rata jumlah koloni 110 per cm^2

10^{-2}	10^{-3}	area (cm^2)	jumlah bakteri perkiraan
~	7150	65	$> 65 \times 10^3 \times 100 = > 6500.000 (6.5 \times 10^6)$
~	6490	59	$> 59 \times 10^3 \times 100 = > 5900.000 (5.9 \times 10^6)$

- e) jika jumlah koloni dari masing-masing koloni yang tumbuh pada cawan petri kurang dari 25 maka nyatakan jumlah bakteri perkiraan lebih kecil dari 25 koloni dikalikan pengenceran yang terendah;

- f) menghitung koloni perambat;

Perambatan pada koloni ada 3 macam, yaitu :

- merupakan rantai yang tidak terpisah;
- perambat yang terjadi diantara dasar cawan petri dan pembenihan;
- perambatan yang terjadi pada pinggir atau pernukaran pembenihan.

Jika terjadi hanya satu perambatan (seperti rantai) maka koloni dianggap satu. Jika terbentuk satu atau lebih rantai terbentuk dan berasal dari sumber yang terpisah-pisah, maka uap sumber dihitung sebagai satu koloni.

B.9 Cemarkan logam**B.9.1 Acuan**

- *Association of Official Analytical Chemistry. 2000. AOAC Official Method 986. 15, Arsenic, Cadmium, Lead, Selenium, and Zinc in Human and Pet Foods, Multielement Method, 17th Edition, Chapter 9.1.01.*
- SNI 01-2896 -1998, *Cara Uji cemarkan logam dalam makanan.*

B.9.2 Penetapan cemarkan logam tembaga(Cu), timbal(Pb), besi(Fe) dan cadmium(Cd)**B.9.2.1 Prinsip**

Peleburan contoh dengan cara pengabuan kering pada 500 °C – 550 °C yang dilanjutkan dengan pelarutan dalam larutan asam. Logam yang terlarut dihitung menggunakan alat Spektrofotometer Serapan Atom (SSA).

B.9.2.2 Peralatan

- neraca analitik terkalibrasi dengan ketelitian 0,1 mg;
- cawan porselin/platina/kwarsa dengan kapasitas 50 ml – 100 ml;
- penangas listrik;
- kertas Whatman No. 41;
- tanur terkalibrasi dengan ketelitian 1 °C;
- Spektrofotometer Serapan Atom beserta kelengkapannya (lampu katoda Cu, Pb, Fe dan Cd) terkalibrasi;
- pipet ukur berskala 0,05 kapasitas 5 ml dan 10 ml, atau buret berskala 0,05 ml berkapasitas 10 ml;
- labu ukur 50 ml, 100 ml, dan 1000 ml, terkalibrasi;
- gelas ukur kapasitas 10 ml;
- gelas piala 250 ml;
- penangas air.

B.9.2.3 Perekasi

- larutan asam nitrat, HNO₃ pekat (65 %, Bj 1,4);
- larutan asam klorida, HCl pekat (37 %, Bj 1,19);
- larutan asam nitrat, HNO₃ 0,1 N;
Encerkan 7 ml HNO₃ 65 % dengan air suling dalam labu ukur 1000 ml dan encerkan sampai tanda garis.
- larutan asam klorida, HCl 6 N;
Encerkan 500 ml HCl 37% dengan air suling dalam labu ukur 1000 ml dan encerkan sampai tanda garis.
- larutan Mg(NO₃)₂.6H₂O 10 % dalam alkohol;
Larutkan 10 g Mg(NO₃)₂.6 H₂O dengan alkohol 95 % menjadi 100 ml.
- larutan baku 1000 µg/ml Cu;
Larutkan 1,000 g Cu dengan 7 ml HNO₃ pekat dalam gelas piala 250 ml dan masukkan ke dalam labu ukur 1000 ml kemudian encerkan dengan air suling sampai tanda garis. Alternatif lain, bisa digunakan larutan baku Cu 1000 µg/ml siap pakai.
- larutan baku 200 µg/ml Cu;
Pipet 10 ml larutan baku 1000 µg/ml Cu ke dalam labu ukur 50 ml kemudian encerkan dengan air suling sampai tanda garis kemudian kocok. Larutan baku kedua ini memiliki konsentrasi 200 µg/ml Cu.
- larutan baku 20 µg/ml Cu;

- Pipet 10 ml larutan baku 200 µg/ml Cu ke dalam labu ukur 100 ml kemudian encerkan dengan air suling sampai tanda garis kemudian kocok. Larutan baku ketiga ini memiliki konsentrasi 20 µg/ml Cu.
- i) larutan baku kerja Cu;
Pipet ke dalam labu ukur 100 ml masing-masing sebanyak 0 ml; 1 ml; 2 ml; 4 ml; 7 ml; dan 9 ml larutan baku 20 µg/ml kemudian tambahkan 5 ml larutan HNO₃ 1 N atau HCl 6 N, dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis kemudian kocok. Larutan baku kerja ini memiliki konsentrasi 0 µg/ml; 0,2 µg/ml; 0,4 µg/ml; 0,8 µg/ml; 1,4 µg/ml; dan 1,8 µg/ml Cu.
 - j) larutan baku 1000 µg/ml Pb;
Larutkan 1,000 g Pb dengan 7 ml HNO₃ pekat dalam gelas piala 250 ml dan masukkan ke dalam labu ukur 1000 ml kemudian encerkan dengan air suling sampai tanda garis. Alternatif lain, bisa digunakan larutan baku Pb 1000 µg/ml siap pakai.
 - k) larutan baku 50 µg/ml Pb;
Pipet 5,0 ml larutan baku 1000 µg/ml Pb ke dalam labu ukur 100 ml dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis kemudian kocok. Larutan baku kedua ini memiliki konsentrasi Pb 50 µg/ml.
 - l) larutan baku kerja Pb;
Pipet ke dalam labu ukur 100 ml masing-masing sebanyak 0 ml; 1 ml; 2 ml; 3 ml; 4 ml; dan 5 ml larutan baku 50 µg/ml kemudian tambahkan 5 ml larutan HNO₃ 1 N atau HCl 6 N, dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis kemudian kocok. Larutan baku kerja ini memiliki konsentrasi 0 µg/ml; 0,5 µg/ml; 1 µg/ml; 1,5 µg/ml; 2,0 µg/ml; dan 2,5 µg/ml Pb.
 - m) larutan baku 1000 µg/ml Fe;
Larutkan 1,000 g Fe dengan 7 ml HNO₃ pekat dalam gelas piala 250 ml dan masukkan ke dalam labu ukur 1000 ml kemudian encerkan dengan air suling sampai tanda garis. Alternatif lain, bisa digunakan larutan baku Fe 1000 µg/ml siap pakai.
 - n) larutan baku 50 µg/ml Fe;
Pipet 5,0 ml larutan baku 1000 µg/ml Fe ke dalam labu ukur 100 ml dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis kemudian kocok. Larutan baku kedua ini memiliki konsentrasi Fe 50 µg/ml.
 - o) larutan baku kerja Fe;
Pipet ke dalam labu ukur 100 ml masing-masing sebanyak 0 ml; 1 ml; 2 ml; 3 ml; 4 ml; dan 5 ml larutan baku 50 µg/ml kemudian tambahkan 5 ml larutan HNO₃ 1 N atau HCl 6 N, dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis kemudian kocok. Larutan baku kerja ini memiliki konsentrasi 0 µg/ml; 0,5 µg/ml; 1 µg/ml; 1,5 µg/ml; 2,0 µg/ml; dan 2,5 µg/ml Fe.
 - p) larutan baku 1000 µg/ml Cd;
Larutkan 1,000 g Cd dengan 7 ml HNO₃ pekat dalam gelas piala 250 ml dan masukkan ke dalam labu ukur 1000 ml kemudian encerkan dengan air suling sampai tanda garis. Alternatif lain, bisa digunakan larutan baku Cd 1000 µg/ml siap pakai.
 - q) larutan baku 50 µg/ml Cd;
Pipet 5,0 ml larutan baku 1000 µg/ml Cd ke dalam labu ukur 100 ml dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis kemudian kocok. Larutan baku kedua ini memiliki konsentrasi Cd 50 µg/ml.
 - r) larutan baku kerja Cd;
Pipet ke dalam labu ukur 100 ml masing-masing sebanyak 0 ml; 1 ml; 2 ml; 3 ml; 4 ml; dan 5 ml larutan baku 50 µg/ml kemudian tambahkan 5 ml larutan HNO₃ 1 N atau HCl 6 N, dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis kemudian kocok. Larutan baku kerja ini memiliki konsentrasi 0 µg/ml; 0,5 µg/ml; 1 µg/ml; 1,5 µg/ml; 2,0 µg/ml; dan 2,5 µg/ml Cd.

B.9.2.4 Cara kerja

- timbang dengan teliti 5 g contoh dalam cawan porselin/platina/kwarsa (m);
- tempatkan cawan berisi contoh uji di atas penangas listrik dan panaskan secara bertahap sampai contoh uji tidak berasap lagi; (bisa ditambahkan 10 ml $\text{MgNO}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 10% dalam alkohol untuk mempercepat pengabuan)
- lanjutkan dengan pengabuan dalam tanur 500°C sampai abu berwarna putih, bebas dari karbon;
- apabila abu belum bebas dari karbon yang ditandai dengan warna keabu-abuan, basahkan dengan beberapa tetes air dan tambahkan tetes demi tetes HNO_3 pekat kira-kira 0,5 ml sampai dengan 3 ml;
- keringkan cawan diatas penangas listrik dan masukkan kembali ke dalam tanur pada suhu 500°C kemudian lanjutkan dengan pemanasan sampai abu menjadi putih. Penambahan HNO_3 pekat bisa diulangi apabila abu masih berwarna keabu-abuan;
- larutkan abu yang berwarna putih dalam 5 ml HCl 6 N atau 5 ml HNO_3 1 N sambil dipanaskan di atas penangas listrik atau penangas air selama 2 menit sampai 3 menit dan masukkan ke dalam labu ukur 50 ml kemudian tepatkan hingga tanda garis dengan air suling (V);
- jika perlu, saring larutan menggunakan kertas saring Whatman No. 41 ke dalam labu ukur 50 ml;
- siapkan larutan blanko dengan penambahan pereaksi dan perlakuan yang sama seperti contoh;
- baca absorbans maksimum larutan baku kerja dan larutan contoh terhadap blanko menggunakan SSA pada panjang gelombang sekitar 324 nm untuk Cu dan 283 nm untuk Pb;
- buat kurva kalibrasi antara konsentrasi logam ($\mu\text{g/ml}$) sebagai sumbu X dan absorbans sebagai sumbu Y;
- plot hasil pembacaan larutan contoh terhadap kurva kalibrasi;
- hitung kandungan logam dalam contoh.

B.9.2.5 Perhitungan hasil

$$\text{Kandungan Logam (mg/kg)} = \frac{C}{m} \times V$$

dengan :

C adalah konsentrasi logam dari kurva kalibrasi, ($\mu\text{g/ml}$)

V adalah volume larutan akhir, (ml);

m adalah bobot contoh, (g).

B.9.2.6 Ketelitian

Kisaran hasil dua kali ulangan deviasi (RSD) maksimal 11%. Jika RSD lebih besar dari 11% maka analisis harus diulang.

B.10 Cemarkan arsen**B.10.1 Acuan**

- Association of Official Analytical Chemistry. 2000. AOAC Official Method 986. 15, Arsenic, Cadmium, Lead, Selenium, and Zinc in Human and Pet Foods, Multielement Method, 17th Edition, Chapter 9.1.01.
- SNI 01 – 4866 – 1998, Cara uji cemarkan arsen dalam makanan.

B.10.2 Prinsip

Contoh didestruksi dengan asam menjadi larutan arsen. Larutan As^{5+} direduksi dengan KI menjadi As^{3+} dan direaksikan dengan NaBH_4 sehingga terbentuk AsH_3 yang kemudian dibaca dengan SSA pada panjang gelombang 193,7 nm.

B.10.3 Peralatan

- spektrofotometer serapan atom yang dilengkapi dengan lampu katoda As dan generator uap hidrida ("HVG");
- neraca analitik dengan ketelitian 0,1 mg;
- labu kjeldahl 250 ml;
- labu ukur 50 ml, 100 ml, 500 ml, dan 1000 ml terkalibrasi;
- pemanas listrik;
- pipet volumetrik 25 ml;
- cawan porselen kapasitas 50 ml;
- gelas ukur 25 ml;
- tanur terkalibrasi dengan ketelitian 1 °C;
- pipet ukur berskala 0,1 ml atau buret berskala 0,05 ml kapasitas 10 ml.

B.10.4 Pereaksi

- asam nitrat, HNO_3 pekat;
- asam hipoklorida, HClO_4 pekat;
- natrium borohidrid, NaBH_4 ;
larutkan 3 g NaBH_4 dan 3 g NaOH dengan air suling sampai tanda garis dalam labu ukur 500 ml.
- asam klorida, HCl 8 M;
Larutkan 66 ml HCl 37 % ke dalam labu ukur 100 ml dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis.
- timah (II) klorida, $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 10 %;
Timbang 50 g $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ke dalam piala gelas 200 ml dan tambahkan 100 ml HCl 37%. Panaskan hingga larutan jernih dan dinginkan kemudian tuangkan ke dalam labu ukur 500 ml dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis.
- kalium iodida, KI 20%;
Timbang 20 g KI ke dalam labu ukur 100 ml dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis (larutan harus dibuat langsung sebelum digunakan).
- larutan baku 1000 mg/l As;
Larutkan 1,3203 g As_2O_3 kering dengan sedikit NaOH 20% dan netralkan dengan HCl atau HNO_3 1:1 (1 bagian asam : 1 bagian air). Masukkan ke dalam labu ukur 1 liter dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis.
- larutan baku 100 µg/ml As;
Pipet 10 ml larutan baku arsen 1000 mg/l ke dalam labu ukur 100 ml dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis. Larutan baku kedua ini memiliki konsentrasi 100 µg/ml As.
- larutan baku 1 µg/ml As;
Pipet 1 ml larutan baku arsen 100 mg/l ke dalam labu ukur 100 ml dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis. Larutan baku ketiga ini memiliki konsentrasi 1 µg/ml As.
- larutan baku kerja As;
Pipet masing-masing 0,5 ml; 1,0 ml; 1,5 ml; 2,0 ml dan 2,5 ml larutan baku 1 µg/ml As ke dalam labu ukur 50 ml terpisah dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis kemudian kocok. Larutan baku kerja ini memiliki konsentrasi 0,01 µg/ml; 0,02 µg/ml; 0,03 µg/ml; 0,04 µg/ml dan 0,05 µg/ml As.

B.10.5 Persiapan contoh**B.10.5.1 Pengabuan basah**

- timbang 5 g contoh ke dalam labu kjeldahl dan tambahkan 20 ml H_2SO_4 p.a dan 15 ml HNO_3 p.a;
- setelah reaksi selesai, panaskan dan tambahkan HNO_3 pekat sedikit demi sedikit sehingga contoh berwarna coklat atau kehitaman;
- tambahkan 10 ml HClO_4 sedikit demi sedikit dan panaskan lagi sehingga larutan menjadi jernih atau berwarna kuning (jika terjadi pengarangan setelah penambahan asam perklorat, tambahkan lagi sedikit HNO_3 p.a);
- pindahkan secara kuantitatif ke dalam labu ukur 50 ml dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis.

B.10.5.2 Pengabuan kering

- timbang 5 g contoh dalam cawan dan tambahkan 2,5 g $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dan 25 ml HNO_3 pekat;
- aduk dengan sempurna dan uapkan di atas penangas listrik hingga kering;
- abukan dalam tanur 500°C selama 2 jam dan basahkan dengan HNO_3 p.a. Uapkan lagi dan abukan lagi selama 1 jam pada 500°C sampai didapat abu berwarna putih;
- larutkan dengan HCl 1 : 3 dalam labu ukur 50 ml dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis.

B.10.5.3 Destruksi dengan microwave (sistem tertutup)

- timbang 1 g contoh ke dalam tabung destruksi mdan tambahkan 2 ml HNO_3 pekat 1 ml H_2O_2 30% kemudian tutup rapat;
- masukkan ke dalam oven microwave dan kerjakan sesuai dengan petunjuk pemakaian alat;
- setelah dingin, pindahkan larutan destruksi ke dalam labu ukur 50 ml secara kuantitatif dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis.

B.10.6 Cara kerja

- siapkan larutan NaBH_4 dan HCl 8M dalam tempat yang sesuai dengan yang ditentukan oleh alat;
- pipet 25 ml larutan destruksi dan tambahkan 2 ml HCl 8M, 0,1 ml KI 20% kemudian biarkan minimal 2 menit;
- tuangkan larutan tersebut ke dalam tabung contoh pada alat;
- tuangkan larutan baku kerja As 0,01 $\mu\text{g/ml}$; 0,02 $\mu\text{g/ml}$; 0,03 $\mu\text{g/ml}$; 0,04 $\mu\text{g/ml}$; 0,05 $\mu\text{g/ml}$; serta blanko ke dalam 6 tabung contoh lainnya. Nyalakan burner serta tombol pengatur aliran pereaksi dan aliran contoh;
- baca nilai absorbans maksimum larutan baku kerja As, larutan contoh dan larutan blanko menggunakan SSA pada panjang gelombang 193,7 nm;
- buat kurva kalibrasi antara konsentrasi As ($\mu\text{g/ml}$) sebagai sumbu X dan absorbans sebagai sumbu Y;
- plot hasil pembacaan larutan contoh terhadap kurva kalibrasi;
- hitung kandungan As dalam contoh.

B.10.7 Perhitungan

$$\text{Kandungan Arsen (mg/kg)} = \frac{C}{m} \times V$$

dengan :

C adalah konsentrasi logam dari kurva kalibrasi, ($\mu\text{g/ml}$)

V adalah volume larutan akhir, (ml);

m adalah bobot contoh, (g).

B.10.8 Ketelitian

Kisaran hasil dua kali ulangan deviasi (RSD) maksimal 16%. Jika RSD lebih besar dari 16%, Maka analisis harus diulang kembali.



Bibliografi

- Asian and Pasific Coconut Community (APPC), 2004.*
- CODEX STAN For Name Vegetable Oil*
- CODEX STAN 33-1981, Codex Standard for Olive Oil, Virgin and Refined, and for Refined Olive-Pomace Oil*
- CODEX STAN 124-1981, Codex Standard for Edible Coconut Oil.*
- CODEX STAN 19 – 2001, Edible Fats and Oils.*
- CODEX STAN 210 Amended 2003 – 2005 dokumen Hig.*
- Philipines National Standard (PNS), 2004 Virgin Coconut Oil (VCO).*
- SNI 01-2891-1992, Cara Uji Makanan dan Minuman.*
- SNI 01-3741-2002, Minyak Goreng. American Oil Chemists Society (AOCS), 1998. And Ce 1-62 and Ce 2-66.*
- American Oil Chemist's Society (AOCS), 1993, Ca 2c-25, Cd-1 25 and Ca 5a-71*
- Association of Official Analytical Chemistry. 2000. AOAC Official Method 986. 15, Arsenic, Cadmium, Lead, Selenium, and Zinc in Human and Pet Foods, Multielement Method, 17th Edition, Chapter 9.1.01.*
- Association of Official Analytical Chemistry. 2000. AOAC Official Method 966. 23, Microbiological Methods, 17th Edition, Chapter 17.2.01.*
- Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual. 1998. Aerobic Plate Count. 8th edition. Chapter 3.*
- International Standard (ISO) 5509, Second Edition 2005-04-01 Animal and Vegetable Fats and Oil Preparation of Methyl Esters of Fatty Acids.*
- International Standard (ISO) 662.1998 (E). Second edition 1998 – 09 – 15, Annual and Vegetable fats and oil – Determination of moisture and volatile metter content.*
- SNI 19-0429-1998, Petunjuk pengambilan contoh cairan dan semi padat.*
- SNI 01-2896-1998, Cara Uji Cemarkan Logam Dalam Makanan.*
- SNI 01-4866-1998, Cara Uji Cemarkan Arsen Dalam Makanan.*
- SNI 01-2897-1992, Cara Uji Cemarkan Mikroba.*
- SNI 01-3555-1994, Cara Uji Minyak dan Lemak.*









BADAN STANDARDISASI NASIONAL - BSN
Gedung Manggala Wanabakti Blok IV Lt. 3-4
Jl. Jend. Gatot Subroto, Senayan Jakarta 10270
Telp: 021- 574 7043; Faks: 021- 5747045; e-mail : bsn@bsn.go.id